Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 1, Spring 2022, p. 93-103

Effect of Mycorrhizal Fungi Symbiosis and Foliar Application of Amino acids on Some Growth Traits and Pot Marigold Oil (*Calendula officinallis* L.)

M. Taheri Asghari[1*]

Received: 26-09-2021 Revised: 20-12-2021 Accepted: 25-12-2021	**How to cite this article:** Taheri Asghari, M. 2022. Effect of Mycorrhizal Fungi Symbiosis and Foliar Application of Amino acids on Some Growth Traits and Pot Marigold Oil (*Calendula officinallis* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 20 (1): 93-103. (in Persian with English abstract). DOI: 10.22067/jcesc.2021.72735.1092.

Introduction: The Food and Drug Administration has classified pot marigold as a GRAS (generally recognized as safe) substance. Foliar nutrition acts as an effective tool for nutrient management in plants, and foliar nutrition can be used successfully to address wide spread nutrient deficiencies, especially in critical plant growth stages. Plants are able to absorb amino acids, amides and many nitrogen compounds through their roots or leaves. Also, plant symbiosis with mycorrhizal fungi causes water absorption, nutrient uptake and growth under environmental stress. These fungi are able to symbiosis with the roots of most terrestrial plants.

Materials and Methods: In order to investigate the effects of foliar application of amino acids and mycorrhizal fungi symbiosis on quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L., a factorial layout has been conducted, based on a randomized complete block design with three replications at the research farm of Islamic Azad University, Takestan Branch during 2017-2018 and 2018-2019 growth seasons. Experimental factors included three species of mycorrhiza fungi (Control, *Glomus mosseae*, *G. etunicatum* and *G. intraradices*) and Soren amino acid levels (This commercial compound contains a variety of essential amino acids for the plant) included no foliar application and foliar application in two stages of stem and flowering. Land preparation was performed before planting. According to the experimental map, experimental plots were planted in six rows at a distance of 50 cm and a length of six meters and the distance between plants on the row was 20 cm. Before planting, based on soil test results, ammonium phosphate fertilizer (150 $kg.ha^{-1}$) and potassium sulfate fertilizer (100 $kg. ha^{-1}$) were used. Both fertilizers were mixed with soil along with one third of the nitrogen mountain from the urea source at the beginning of planting. Urea fertilizer at the rate of 100 $kg.ha^{-1}$ was applied and the remaining two thirds were applied as a road after the final thinning and before flowering.

Results and Discussion: The results showed that the application of amino acid and mycorrhizal fungus of *G. mosseae* species had a so significant increase in the percentage of root colonization compared to the treatment of not using mycorrhizal fungus and the application of amino acid. Foliar application of amino acid increased by 6% and use of mycorrhiza, *G. mosseae* in pot marigold, increased chlorophyll index treatment by 33%. The results also showed a 25% and 70% increase in oil percent and oil yield due to foliar application of amino acid and use of mycorrhiza, *G. mosseae* compared to non-use, foliar application of amino acid and mycorrhiza. The highest essential oil yield was obtained from *G. mosseae* treatment with a value of 7.74 $kg.ha^{-1}$. The results of analysis of variance showed that the interaction effect of foliar application of amino acid and mycorrhiza on the percentage and oil yield was significant at the level of five percent. The results showed a 25% and 70% increase in oil yield and yield due to foliar application of amino acid and mycorrhiza, respectively, of *G. mosseae* compared to non-foliar application of amino acid and mycorrhiza. Inoculation with *G. mosseae* and application of amino acid had the highest seed yield and this treatment showed a 24% increase compared to the control with the same mycorrhiza but without the use of amino acid.

Conclusion: Based on this study results, it can be said that inoculation of pot marigold with mycorrhizal fungus, especially *G. mosseae* species, it can be used to absorb nutrients for better growth of this plant, and foliar application of amino acids improves plant growth and development by providing nitrogen to the plant.

Keywords: Chlorophyll index, Mycorrhiza, Oil, Root colonization

---

1- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.taheri.asghari@gmail.com)
DOI: 10.22067/jcesc.2021.72735.1092

نشریه پژوهشهای زراعی ایران

Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، بهار ۱٤۰۱، ص ۱۰۳-۹۳

اثر همزیستی قارچ مایکوریزا و کاربرد برگی اسیدهای آمینه بر برخی صفات رشدی و روغن گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinallis* L.)

مهدی طاهری اصغری[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۴

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسیدهای آمینه و همزیستی قارچ مایکوریزا بر صفات کمـی و کیفـی گیـاه دارویـی همیشـه بهـار (*Calendula officinalis* L.) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار، طی سال‌های زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ و ۱۳۹۸ و ۱۳۹۷- در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان اجرا شد. عوامل آزمایشـی شـامل سـه گونـه قـارچ مـایکوریزا (شـاهد، *Glomus mosseae*، *G.etunicatum* و *G. intraradices*) و سطوح اسید آمینه سورن (این ترکیب تجاری حاوی انواع اسید آمینه‌های ضروری برای گیاه اسـت) شـامل بدون محلول‌پاشی و محلول‌پاشی در دو مرحله ساقه‌دهی و گل‌دهی بود. نتایج نشان داد که کاربرد اسید آمینه و قـارچ مـایکوریزا گونـه *G. mosseae* نسبت به تیمار عدم استفاده از قارچ مایکوریزا و کاربرد اسید آمینه افزایش بسیار معنی‌داری در درصد کلونیزاسیون ریشه داشت. کـاربرد *G. mosseae* در همیشه بهار باعث افزایش ۳۳٪ شاخص کلروفیل شد. همچنین نتایج نشان دادند درصد و عملکرد روغن در اثر کاربرد برگی اسید آمینـه و اسـتفاده از *G. mosseae* به‌ترتیب به میزان ۲۵٪ و ۷۰٪ نسبت به تیمار عدم استفاده از اسید آمینه و مایکوریزا افزایش یافت. بیشترین عملکرد اسانس نیز از تیمار *G. mosseae* با مقدار ۷/۷۴ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که تلقیح گیاه دارویی همیشه بهار با قارچ مـایکوریزا بـه‌ویـژه گونه *mosseae* می‌تواند در جذب عناصر غذایی در جهت رشد بهتر این گیاه استفاده شود و کاربرد برگی اسید آمینه با در اختیار قرار دادن نیتروژن برای گیاه، روند رشد و توسعه گیاه را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: روغن، شاخص کلروفیل، کلونیزاسیون ریشه، مایکوریزا

مقدمه

گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)، به دلیل خواص درمانی آن به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته اسـت (Gunes *et al.*, 2020). سـازمان غـذا و داروی آمریکـا[۲] گیـاه همیشـه بهـار را به‌عنوان ماده GRAS[۳] (به‌طور کلی بی‌خطر) طبقه‌بنـدی کـرده اسـت (Slavov *et al.*, 2020). با این حال، ایجاد شرایط برای رشد مناسب، باید در تغذیه این گیاه دقت نظر داشت. از طرفی با توجه بـه اسـتفاده دارویی از این گیاه، کاهش استفاده از سموم و کودهـای شـیمیایی در رشد و نمو گیاه هدف به زراعی در این گیاه مـی‌تواننـد باشـد. در ایـن راستا یکی از فعالیت‌هایی که مـی‌تـوان انجـام داد، محلـول‌پاشـی بـا اسـیدهای آمینــه اسـت، بــه‌طــوری‌کــه پــور یوســف و شــهروان (Pouryousef and Shahrvan, 2014) نیـز بیـان داشـتند کـه محلول‌پاشی اسـیدهای آمینـه بـا افـزایش در جـذب عناصـری چـون نیتروژن، فسفر، پتاسیم و عناصر کم مصـرف باعـث افـزایش رشـد و عملکرد در گیاه ذرت گردیده است. البته ایـن روش جـایگزینی کامـل برای کاربرد خاکی کود نیست. علی‌رغم وجود محدودیت، تغذیه برگی به‌عنوان یک ابزار کارآمد برای مدیریت مواد مغذی در گیاهـان عمـل کرده و برای مقابله با کمبودهای گسترده مواد مغذی به‌ویژه در مراحل حساس رشد گیاهان، تغذیه برگی می‌تواند با موفقیـت مـورد اسـتفاده قرار گیرد (Krishnasree *et al.*, 2021). اسـیدهای آمینـه از طریـق ریشه نیز جذب گیاه می‌شوند. غلظت اسیدهای آمینه در خاک به‌طـور طبیعی، از طریق جذب و رهاسـازی (تـراوش) هـر دو، توسـط ریشـه گیاهان، میکروارگانیسم‌های مختلف همزیست و آزادزی کنتـرل شـود (Nasholm *et al.*, 2009). آن‌ها بیـان کردنـد کـه کـه نـرخ جـذب اسیدهای آمینه احتمالاً کمتر از NH_4 است امـا بیشـتر از NO_3 بـرای اکثر گونه‌های گیاهی مورد مطالعه تا به امروز است. اسیدهای آمینه در سطح سلولی دارای پروتئین‌های ناقل ویژه بوده که از آن طریق امکان جذب و انتقال را دارند. از دیگر فعالیت‌های مدیریتی که بـرای رشـد و نمو و تغذیه گیاهان می‌توان مورد استفاده قرار داد، کاربرد قـارچ‌هـای

۱- استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: m.taheri.asghari@gmail.com)

DOI: 10.22067/jcesc.2021.72735.1092

2- Food and Drug Administration

3- Generally recognized as safe

مایکوریزایی است. همزیستی گیاه با قارچ‌های مایکوریزا باعث جذب آب، جذب مواد مغذی و رشد تحت شرایط تنش محیطی می‌شود (Zhang *et al*., 2019). دیاگن و همکاران (Diagne *et al*., 2020) نیز اظهار داشتند که قارچ‌های مایکوریزی (AM) می‌توانند رابطه همزیستی با اکثر گیاهان برقرار کنند. همزیستی گیاه و قارچ‌های همزیست خاکزی مانند مایکوریزا، راهکار مفیدی در جهت افزایش مواد آلی خاک، تقویت جوامع میکروبی، افزایش کارایی مصرف نهاده‌های کشاورزی به‌ویژه آب آبیاری و در نهایت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان محسوب می‌شود (Aqhawani Shajari *et al*., 2015). هازومی و همکاران (Hazzoumi *et al*., 2015) گزارش دادند که دلیل سودمندی مایکوریزا در این است که باعث تغییر در سوخت و ساز گیاه شده و این تغییرات، باعث تولید ترکیبات دفاعی در گیاه می‌گردد. همچنین این قارچ‌ها با بهبود روابط تغذیه‌ای و آبی گیاهان از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه گیاه و افزایش سطح جذب، سبب بهبود رشد آن‌ها می‌شوند. با همزیستی که بین مایکوریزا و ریشه گیاهان ایجاد می‌شود، مایکوریزا با استفاده از قندهای فتوسنتزی تولیدی توسط گیاه، رشد و تکثیر می‌یابد و در مقابل باعث افزایش رشد گیاه از طریق افزایش جذب مواد غذایی، تحریک سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد داخلی و افزایش راندمان فتوسنتزی می‌شود (Rekha *et al*., 2009). پژوهش محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2013) که بر روی گیاه همیشه‌بهار انجام شد، بیان داشتند که تلقیح گیاهان با قارچ میکوریزا همراه یا بدون کاربرد فلزهای سنگین منجر به بهبود رشد و عملکرد گیاه شد. همچنین صوری و یار احمدی (Souri and Yarahmadi, 2015) بیان کردند که برای رشد بهینه گیاه همیشه بهار به جای مصرف خاکی کودهای شیمیایی از چهار بار محلول‌پاشی آمینوکالات‌ها استفاده کرد. گیاه دارویی همیشه بهار در کشورهای آلمان، استرالیا، چک، اتریش، سوئیس، مجارستان و اخیراً در مصر و سوریه به‌عنوان گیاهی دارویی کشت می‌شود. کشورهای صادرکننده آن شامل مصر، لهستان و مجارستان هستند. اما کشورهای اصلی عرضه‌کننده این گیاه اسپانیا، پرتقال، الجزائر، تونس، یوگسلاوی، مجارستان، بلغارستان، سوریه و مصر می‌باشد (Amouii *et al*., 2017). با توجه به کاربردهای مختلف گیاه دارویی همیشه بهار در پزشکی از جمله خاصیت آن در ترمیم زخم، فعالیت تحریک‌کننده سیستم ایمنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتری و قارچ و غیره به‌عنوان ماده اولیه در بسیاری از داروها از جمله قطره کالاندولا، کرم موضعی کالاندولا، پماد رکوبیزول روغن کالاندولا و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین استفاده از ماده خام با مصرف کمتر کودهای شیمیایی می‌تواند در سلامت محصول تولیدی مهم باشد. از سویی دیگر، در مناطق مختلف ایران شرایط آب و هوایی، امکان کشت این گیاه را فراهم می‌آورد و می‌توان برای تولید محصولات دارویی و صادرات آن‌ها اقدام کرد. در این تحقیق به اثر محلول‌پاشی با اسیدآمینه سورن و همزیستی گونه‌های قارچ مایکوریزا بر برخی صفات رشدی و روغن گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار، طی سال‌های زراعی ۱۳۹۹–۱۳۹۸ و ۱۳۹۸ - ۱۳۹۷ در زمین‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴۲ دقیقه شرقی و ۱۲۶۵ متر ارتفاع از سطح دریا اجرا شد. عوامل آزمایش شامل سطوح مختلف قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*، *G. etunicatum* و *G. intraradices* و شاهد) که از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک واقع در اسدآباد همدان تهیه شده که در هر گرم آن، تعداد ۱۲۰ اسپور قارچ مایکوریزا وجود داشت و سطوح اسیدآمینه سورن شامل بدون محلول‌پاشی و محلول‌پاشی در دو مرحله ساقه‌دهی و گل‌دهی بود. میزان مصرف به‌صورت یک کیلوگرم در هکتار با توجه به توصیه شرکت سازنده (به‌صورت پودری و محصول کمپانی GPPW سوئیس و تولید شرکت Biomega یونان) بود که خریداری و مصرف شد. برخی ویژگی‌های خاک محل آزمایش و اسیدآمینه سورن مورد استفاده در آزمایش، در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک مزرعه از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر

Table 1- Selected chemical properties of farm soil from a depth of 0 to 30 (cm) used

بافت خاک Soil texture	ماسه Sandy (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	پتاسیم K (mg.kg^{-1})	فسفر P (mg.kg^{-1})	نیتروژن N (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	مواد خنثی‌شونده Neutralizing materials (%)	هدایت الکتریکی خاک EC (dS.m^{-1})	pH
لوم رسی شنی Sandy clay loam	57	20	23	134	6.2	0.03	0.28	5.6	2.48	7.4

جدول ۲- مشخصات اسید آمینه‌های آمینو سورن (پودری) (Torabahmadi *et al*., 2019)

Table 2- Characteristics of the amino acid Soren (powder)

نام اسید آمینه	Name of amino acid	g.100^{-1} g protein	نام اسید	Name of amino acid	g.100^{-1} g protein
آلانین	Alanine	8.9	لیسین	leycine	3.6
آرژنین	Arginine	7	لیزین	lysine	4.4
اسید آسپارتیک	Aspartic Acid	6.3	متیونین	Methionine	1.5
سیستئین	cysteine	0.3	فنیل آلانین	Phenylalanine	2.5
اسید گلوتامیک	Glutamic Acid	12.5	پرولین	Proline	11
گلایسین	Glycine	20	سرین	Serine	3.4
هیستیدین	Histidine	1.7	ترئونین	Threonine	2.1
هیدروکسی پرولین	Hydroxiproline	8.8	تیروزین	Tyrosine	1.3
ایزولوسین	Isoleucine	1.5	والین	Valine	3.2

عملیات آماده‌سازی زمین با انجام شخم، دیسک و ماله، قبل از کاشت صورت گرفت. با توجه به نقشه آزمایش، کرت‌های آزمایشی به‌صورت شش ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و به طول شش متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف نیز ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. قبل از عملیات کاشت بر اساس نتایج آزمون خاک، از کود فسفات آمونیوم به مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و از کود سولفات پتاسیم به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد و هر دوی این کودها به همراه یک سوم کود نیتروژنه از منبع اوره در ابتدای کاشت با خاک مخلوط شدند. کود اوره به میزان ۱۰۰ کیلو گرم در هکتار استفاده شد و دو سوم باقی‌مانده پس از تنک نهایی و قبل از گلدهی به‌صورت سرک داده شد.

عملیات کاشت در ۱۵ اردیبهشت‌ماه هر دو سال انجام شد. بذور مورد استفاده از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد و پس از ضدعفونی مورد استفاده قرار گرفت. برای چسبندگی بهتر بذرها با مایه تلقیح قارچ مایکوریزا (مایه تلقیحی به شکل پودر است) (از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید) از صمغ عربی استفاده شد (Khoramdel *et al*., 2008). پس از ۱۰ دقیقه و اطمینان از اختلاط با قارچ، بذرها به مدت یک ساعت در سایه خشک شدند و پس از آن، عملیات کاشت به سرعت انجام شد. صفات درصد کلونیزاسیون ریشه، شاخص کلروفیل، عملکرد دانه، عملکرد اسانس، شاخص سطح برگ، طول ساقه گل‌دهنده، درصد روغن، عملکرد روغن، تعداد شاخه جانبی و قطر گل اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ریشه‌های نازک و جوان، در مرحله گل‌دهی، انتخاب شده و در مخلوط آب مقطر و الکل اتیلیک قرار گرفت (Arjmand Alavi *et al*., 2014). ریشه‌ها پس از خارج شدن از مخلوط ۵۰٪ آب مقطر و ۵۰٪ الکل اتیلیک، ۳ الی ۴ بار با آب معمولی شستشو شدند. آن‌گاه به مدت نیم ساعت در داخل هیدروکسید پتاسیم ۸ تا ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفته و به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر قرار داده شدند. پس از خروج از اتوکلاو، نمونه‌ها ۳ الی ۴ بار با آب معمولی شسته شدند. سپس ریشه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول آب اکسیژنه دو درصد قرار گرفتند. پس از آن، مجدداً نمونه‌ها با آب معمولی شسته شده و سپس به مدت یک دقیقه در داخل اسید کلریدریک ۱٪ غوطه‌ور شدند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از اسید، در محلول تریپان‌بلو (به نسبت ۱:۱:۱اسید لاکتیک- گلیسرول- آب مقطر و ۰/۰۵ درصد وزنی- حجمی تریپان‌بلو) به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از این مدت، ریشه‌ها از محلول تریپان‌بلو خارج شده و با استفاده از روش (Kormanik and McGraw, 1982) درصد کلونیزه شدن ریشه مشخص شد. تعدادی از این ریشه‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب شده و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و با استفاده از رابطه (۱) درصد کلونیزاسیون تعیین شد.

$$\text{درصد کلونیزاسیون} = \frac{\text{تعداد قطعات ریشه آلوده شده به قارچ}}{\text{تعداد کل قطعات ریشه مطالعه شده}} \times 100 \qquad (۱)$$

جهت اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی مدل (SPAD-502) در مرحله گل‌دهی انجام شد. برای این منظور پس از قرائت عدد دستگاه در برگ‌های ۳ بوته (با استفاده از برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته) و برگ‌های مربوط به هر واحد آزمایشی، میانگین آن به‌عنوان شاخص کلروفیل برگ برای هر تیمار ثبت شد (Hamzei and Salimi, 2014). به‌منظور تعیین عملکرد دانه، از مساحت ۲ متر مربع کرت‌ها و با در نظر گرفتن اثر حاشیه، بوته‌ها کف بر شده (در انتهای مرحله گلدهی و رسیدگی دانه‌ها) و صفت عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. برای اسانس‌گیری از روش تقطیر (با استفاده از دستگاه کلونجر) با آب و با استفاده از گل‌ها انجام گرفت. گل‌های کامل هر کرت پس از اعمال محلول‌پاشی و در سه چین انتهای تیر، مرداد و شهریور برداشت و با هم مخلوط شد و برای اسانس‌گیری مورد استفاده قرار گرفتند. مقدار ۲۵ گرم گل پس از توزین دقیق و خرد کردن، به همراه ۶۰۰ میلی‌لیتر آب به بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. دما در ابتدای کار بین ۱۳۰ تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از جوش‌آمدن محلول، دما در ۱۰۰

درجه سانتی‌گراد ثابت نگداری شد. بعد از اتمام اسانس‌گیری، به جداسازی اسانس و توزین آن با ترازوی با دقت بالا اقدام شد (Omidbeigi, 2000). عملکرد اسانس با ضرب کردن درصد اسانس در عملکرد خشک گل تقسیم بر ۱۰۰به‌دست آمد و به‌صورت کیلوگرم در هکتار بیان شد. برای محاسبه شاخص سطح برگ (LAI) در مرحله شروع گل‌دهی اقدام شد و مساحت برگ‌ها به روش وزنی محاسبه شد. برای تعیین شاخص سطح برگ از رابطه (۲) استفاده شد که در آن A سطح نمونه‌برداری و LA سطح برگ می‌باشد (Soleimani, 2015).

$$LAI = \frac{1}{A} \times LA \quad (۲)$$

برای تعیین درصد روغن دانه از دستگاه سوکسله و با استفاده از حلال دی اتیل اتر انجام شد. از هر کرت ۱۰ گرم دانه‌ی خشک انتخاب و آسیاب شد. سپس ۲ گرم آن را داخل کارتوش دستگاه ریخته و حلال دی اتیل اتر بر روی نمونه ریخته و توسط هیتر حرارت داده شد. برای هر نمونه ۴ تا ۵ ساعت زمان مورد نیاز است. روغن استخراج شده از نمونه ۲۴ ساعت در دستگاه آون به در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا دی اتیل اتر باقیمانده تبخیر گردد. سپس روغن استخراج شده با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ توزین و میزان روغن در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه شد. عملکرد روغن نیز از حاصل ضرب درصد روغن و عملکرد دانه، محاسبه شد (Rahmani *et al*., 2008). نتایج حاصل توسط نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1.3) به‌صورت مرکب مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه

در بررسی صفت کلونیزاسیون ریشه مشخص شد که اثر متقابل اسیدآمینه و مایکوریزا بر این صفت در سطح یک درصد معنی‌دار شد و اثر سال معنی‌دار نشد. نتایج نشان داد که کاربرد اسید آمینه و قارچ مایکوریزا گونه *G. mosseae* نسبت به تیمار عدم استفاده از قارچ مایکوریزا و کاربرد اسید آمینه افزایش بسیار معنی‌داری در درصد کلونیزاسیون ریشه داشت (جدول ۳). در بین دیگر گونه‌های مایکوریزای مورد استفاده در این آزمایش *G. etunicatum* دارای کمترین مقدار در این صفت بود. صفری سنجانی و الیاسی یگانه (Safari Sinegani and Elyasi Yeganeh, 2017) نشان دادند که *C. officinalis* دارای درصد کلونیزاسیون بالایی است. در پژوهشی که ملکی و همکاران (Maleki *et al*., 2014) انجام دادند، بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح مصرف مایکوریزا *G. mosseae* (۴۴/۵۶٪) بود که در حدود ۱۱/۱٪ بیشتر از مصرف مایکوریزا *G. intraradices* (۴۰/۱٪) گزارش کردند. در پژوهش حمزه‌ای و سلیمی (Hamzei and Salimi, 2014) گونه *G. mosseae* درصد کلونیزاسیون ریشه بالاتری نسبت به شاهد (بدون تلقیح) و گونه *G. intraradices* نشان داد. در پژوهش دیگری که خیری و همکاران (Kheiri *et al*., 2020) انجام دادند، بیان داشتند که بیشترین درصد کلونیزاسیون با ریشه همیشه‌بهار در گونه *G. intraradices* بوده که از نظر آماری با گونه‌های *G. mosseae* و *G. geosporum* اختلاف معنی‌داری نداشت.

جدول ۳- اثر برهم‌کنش تیمارهای اسید آمینه و مایکوریزا بر برخی صفات گیاه همیشه بهار

Table 3- Interaction of amino acid and mycorrhiza treatments on some traits of *calendula officinalis*

		درصد کلونیزاسیون ریشه Root colonization percentage (%)	عملکرد بذر Seed yield (kg.ha^{-1})	طول ساقه گل‌دهنده Lenght of flower stem (cm)	درصد روغن Oil percentage (%)	عملکرد روغن Oil yield (kg.ha^{-1})
شاهد (Control)	شاهد (Control)	3.50 c	926.67 d	20.73 c	17.05 c	158.43 d
	G. mosseae	50.83 a	1793.83 a	23.03 a	22.46 a	402.96 a
	G.etunicatum	40.83 b	1167.17 c	21.76 b	21.36 b	249.33 c
	G.intradices	44.16 b	1343.83 b	21.73 b	21.91 ab	294.71 b
کاربرد اسید آمینه Amino acid application	شاهد (Control)	4.66 d	1624.00 d	21.65 c	18.18 c	295.88 d
	G. mosseae	59.83 a	2343.83 a	24.26 a	22.65 a	531.15 a
	G.etunicatum	40.16 c	1963.33 c	22.71 b	21.41 b	420.35 c
	G.intradices	47.33 b	2170.83 b	23.78 a	22.31 a	484.56 b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan test at 5% probability level.

چنین می‌توان بیان کرد که قبل از مصرف و در دسترس بودن اسیدهای آمینه، قارچ با ریشه گیاهان شروع به همزیستی کرده و کاربرد اسیدآمینه، سبب هم‌افزایی در گیاه همیشه‌بهار در جهت بهبود درصد کلونیزاسیون ریشه این گیاه شده است به طوری‌که در گونه *G. mosseae* درصد کلونیزاسیون ریشه حدود ۱۵٪ در تیمار کاربرد محلول‌پاشی اسید آمینه نسبت به عدم کاربرد افزایش نشان می‌دهد.

شاخص سطح برگ

نتایج نشان داد که اثر کاربرد اسیدآمینه و قارچ مایکوریزا بر صفت شاخص سطح برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد. با بررسی نتایج

مشخص شد که کاربرد اسیدآمینه (۰/۲۱) باعث افزایش شاخص سطح برگ شد، به‌طوری‌که این صفت نسبت به تیمار عدم کاربرد اسیدآمینه (۰/۱۹) حدود ۱۰ ٪ افزایش را نشان داد (جدول ۴). همچنین گونه‌ی *G. mosseae* باعث بیشترین مقدار در صفت شاخص سطح برگ شد که نسبت به تیمار گونه‌ی *G. intraradices* حدود ۸٪ افزایش و نسبت به تیمار شاهد (بدون کاربرد مایکوریزا) ۴۰٪ افزایش را نشان داد (جدول ۴).

در پژوهشی که توسط رضاخانی و حاج سید هادی (Rezakhani and Haj Seyed Hadi, 2017) انجام شد، کاربرد محلول‌پاشی اسیدآمینه هیومی فورته باعث افزایش ۴۳/۸۲٪ شاخص سطح برگ در گیاه گشنیز شد. اسیدهای آمینه می‌توانند به‌عنوان منبعی برای نیتروژن بوده و در تولید پروتئین و کلروفیل در گیاه اثر گذاشته و نتیجتاً باعث افزایش در سطح برگ و نورساخت گیاهان گردند (Ghazi Manas *et al.*, 2013). در پژوهشی که توسط رفیعی و همکاران (Rafiee *et al.*, 2013) انجام شد، کاربرد اسید آمینه اثر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ گیاه همیشه بهار داشت. نتایج پژوهش رحیمی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2016) نیز نشان داد که بیشترین شاخص سطح برگ در گیاه گاو زبان (*Borago officinails* L.) مربوط به کاربرد مایکوریزا گونه‌ی *G. mosseae* و گونه‌ی *G. intraradices* بوده که البته گونه‌ی *G. mosseae* با اختلاف کمی، دارای مقدار بیشتری بود. به نظر می‌رسد با افزایش مواد مغذی اسید آمینه، آسیمیلاسیون آمونیاک باعث افزایش رشد برگ و سپس افزایش شاخص سطح برگ می‌شود. افزایش شاخص سطح برگ با افزایش فتوسنتز خالص مرتبط است که در نهایت منجر به افزایش وزن خشک گیاه می‌شود.

طول ساقه گل‌دهنده، تعداد شاخه‌های جانبی و قطر گل

بررسی نتایج نشان داد که اثر برهم‌کنش کاربرد برگی اسیدآمینه و مایکوریزا بر صفت طول ساقه گل‌دهنده در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان‌دهنده این است که کاربرد اسیدآمینه و گونه‌ی *G. mosseae* با مقدار ۲۴/۲۶ سانتی‌متر دارای بیشترین طول ساقه گل‌دهنده بوده و نسبت به تیمار بدون تلقیح و کاربرد اسید آمینه ۱۱٪ افزایش و نسبت به تیمار عدم کاربرد اسید آمینه و مایکوریزا (شاهد) ۱۵٪ افزایش را نشان داد (جدول ۳). در بررسی نتایج مشخص گردید که اثر کاربرد برگی اسیدآمینه و اثر مایکوریزا بر صفت تعداد شاخه‌های جانبی و قطر گل در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

جدول ٤- اثر کاربرد تیمارهای اسید آمینه و مایکوریزا بر برخی صفات گیاه همیشه بهار

Table 4- Effect of application of amino acid and mycorrhiza treatments on some traits of *calendula officinalis*

		شاخص کلروفیل **Chlorophyll index**	عملکرد اسانس **Essential oil yield ($kg.ha^{-1}$)**	شاخص سطح برگ **LAI**	تعداد شاخه جانبی **Number of lateral branches**	قطر گل **Flower diameter (cm)**
سال Year	1	39.54 a	5.59 a	0.21 a	4.78 a	4.92 a
	2	39.37 a	5.80 a	0.20 a	4.90 a	5.04 a
اسید آمینه Amino acid	عدم استفاده (Do not use)	38.29 b	5.35 b	0.19 b	4.62 b	4.62 b
	کاربرد اسید آمینه	40.62 a	6.04 a	0.21 a	5.06 a	5.34 a
مایکوریزا Mycorrhiza	عدم استفاده (Do not use)	34.33 d	6.08 b	0.15 d	3.44 d	3.25 d
	G. mosseae	44.41 a	7.74 a	0.25 a	5.88 a	5.96 a
	G.etunicatum	37.33 c	3.84 d	0.17 c	4.65 c	5.96 c
	G.intradices	41.75 b	5.13 c	0.23 b	5.38 b	5.56 b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan test at 5% probability level.

کاربرد برگی اسیدآمینه باعث افزایش به‌ترتیب ۹٪ و ۱۳٪ در مقدار صفات تعداد شاخه‌های جانبی و قطر گل نسبت به شاهد شد و همچنین گونه‌ی *G. mosseae* اثر بیشتری نسبت به کاربرد برگی اسیدآمینه در این صفات داشته و باعث افزایش ۴۱ درصدی در صفت تعداد شاخه‌های جانبی و افزایش ۴۵٪ قطر گل نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

صبوری و همکاران (Saburi *et al.*, 2014) نشان دادند که بیشترین تعداد شاخه فرعی در بوته (۱۴/۰۸ عدد) در گیاه ریحان سبز با محلول‌پاشی توام اسید آمینه آمینول فورته و هیومی فورته به‌دست آمد. همچنین صوری و یاراحمدی (Souri and Yarahmadi, 2015) گزارش دادند که بیشترین طول ساقه گل‌دهنده (۲۴/۱ سانتی‌متر) در همیشه بهار از تیمارهای محلول‌پاشی با اسیدآمینه دلفن‌پلاس و کاربرد خاکی NPK به‌دست آمد که با تیمار شاهد، تفاوت معنی‌دار بود. نتایج پژوهش صوری و یاراحمدی (Souri and

Yarahmadi, 2015) نشان داد که بیشترین قطر گل در همیشه‌بهار (۳/۱ سانتی‌متر) از تیمار اسیدآمینه دلفن پلاس با چهار بار محلول‌پاشی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها نشان داد. رحیمی و همکاران (Rahimi *et al*., 2016) با آزمایش خود بر گیاه دارویی گاو زبان (*Borago officinails* L.) گزارش دادند که بیشترین تعداد شاخه فرعی مربوط به کاربرد مایکوریزا گونه‌ی *G. mosseae* بوده است. همچنین محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2013) در آزمایش خود بر روی گیاه همیشه‌بهار اظهار داشتند که قطر گل به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر قارچ مایکوریزا قرار گرفت. تامین نیتروژن، که از طریق کاربرد برگی اسیدآمینه می‌توان ایجاد کرد، موجب تحریک رشد گیاه و افزایش در تعداد ساقه‌های فرعی شده و از طرفی فعالیت مایکوریزا و افزایش جذب بسیاری از عناصر مهم از جمله فسفر، منجر به بهبود میزان فتوسنتز در گیاه و افزایش رشد و افزایش تعداد ساقه می‌گردد. این افزایش در طول ساقه گل‌دهنده و تعداد شاخه‌هاتی جانبی را می‌توان به وجود ارتباط تنگاتنگ و مثبت که اغلب در بین میزان فتوسنتز خالص و مواد غذایی برگ‌ها است، نسبت داد.

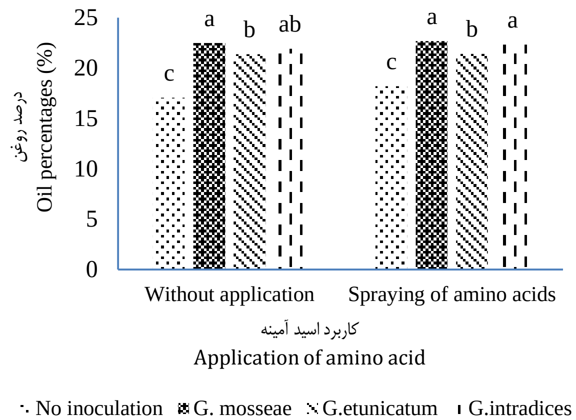
شاخص کلروفیل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر کاربرد برگی اسیدآمینه و اثر مایکوریزا بر صفت شاخص کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان‌دهنده افزایش شش درصدی شاخص کلروفیل در اثر کاربرد برگی اسید آمینه بوده و استفاده از مایکوریزا و گونه‌ی *G. mosseae* باعث افزایش ۳۳٪ این صفت شد و بیان‌کننده تاثیر بیشتر مایکوریزا نسبت به کاربرد برگی اسیدآمینه در افزایش این شاخص است (جدول ۴). یکی از مهم‌ترین نقش‌های مایکوریزا افزایش محتوای کلروفیل است (Gogoi and Sint, 2011). گزارش شده است که مایکوریزا فتوسنتز گیاه را افزایش داده و بنابراین، نسبت ذخیره‌سازی و انتقال مواد در همان زمان افزایش پیدا می‌کند که احتمالاً دلیل این امر افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان مایکوریزایی است (Auge, 2001). در پژوهشی که خیری و همکاران (Kheiri *et al*., 2020) انجام دادند، با بررسی نه گونه قارچ مایکوریزا بر گیاه همیشه بهار، بیان کردند که *G. mosseae* تأثیر مثبتی بر بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت، به‌طوری‌که میزان کلروفیل کل در تلقیح با آن نسبت به تیمار شاهد ۶۸ درصد افزایش یافت. مقدسان و همکاران (Moghadasan *et al*., 2016) نیز بیان کردند که استفاده از قارچ‌های مایکوریزا موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به گیاهان غیر مایکوریزایی در گیاه همیشه‌بهار شد. مایکوریزا باعث افزایش در سطح جذب عناصری همچون نیتروژن، آهن و منیزیم شده و با توجه به این‌که این عناصر نقش مهمی در ساختمان کلروفیل دارند، احتمالاً باعث افزایش معنی‌داری در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند (Chaudhary *et al*., 2007).

فتحی و همکاران (Fathi *et al*., 2020) نشان دادند که اسیدهای آمینه با افزایش میزان نیتروژن، پتاسیم و فسفر در گیاه، باعث افزایش میزان رنگیزه‌ها (کلروفیل) شده که به دنبال توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود. در مطالعه دیگری نیز کاربرد اسیدهای آمینه منجر به افزایش کلروفیل شد (Faten *et al*., 2010). آمینو اسیدها و مایکوریزا باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاه و در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها شده و در نتیجه وزن تر و خشک گیاه افزایش می‌یابد که احتمالاً می‌توان یک هم افزایی در بین تیمارها را بر این صفت مشاهده کرد که نتیجه آن افزایش عملکرد در گیاه خواهد بود.

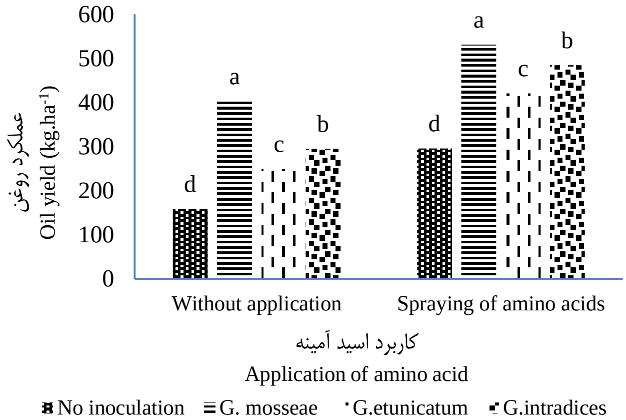
درصد و عملکرد روغن

با بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس مشخص گردید که اثر برهم‌کنش کاربرد برگی اسید آمینه آمینو سورن و مایکوریزا بر درصد و عملکرد روغن در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان‌دهنده افزایش به‌ترتیب ۲۵ و ۷۰ درصدی در درصد و عملکرد روغن در اثر کاربرد برگی اسید آمینه و استفاده از مایکوریزا، گونه‌ی *G. mosseae* نسبت به عدم استفاده از کاربرد برگی اسید آمینه و مایکوریزا بود (جدول ۳ و شکل ۱ و ۲). رحمانی و همکاران (Rahmani *et al*., 2008) بیان کردند که بیشترین عملکرد روغن با ۳۷۷/۴ کیلوگرم در هکتار از کاربرد ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و بیشترین درصد روغن نیز به میزان ۲۲/۶٪ از کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به‌دست آمد. در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح با قارچ مایکوریزا، بیوسولفور و ترکیب دوگانه مایکوریزا و بیوسولفور با کتان در مقایسه با شاهد، عملکرد روغن را به‌ترتیب به میزان ۳۲، ۲۸ و ۳۱ درصد افزایش داد (Rahimi *et al*., 2019). آبیاری پس از ۹۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر و کاربرد قارچ گونه‌ی *G. mosseae* ۴۷ درصد میزان روغن دانه گیاه گاو زبان را نسبت به آبیاری پس از ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر و عدم کاربرد مایکوریزا را افزایش داد (Rahimi *et al*., 2017). نتایج نشان داد که عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن با این که در ساختمان روغن همیشه بهار وجود ندارد، اما سبب افزایش درصد روغن شد. زیرا روغن این گیاه در درون کیسه‌های روغن موجود در میوه‌ها وجود دارد و نیتروژن با افزایش این کیسه‌ها و بدون آن که در ساختمان روغن نقشی داشته باشد سبب افزایش روغن شده است (Rahmani *et al*., 2008). محققان بیان کردند که در ابتدا کربوهیدرات‌ها تجمع می‌یابند و سپس این ماده به روغن و پروتئین و یا هر ماده دیگر تبدیل می‌شود. پس هرچه طول مدت پر شدن دانه بیشتر باشد درصد روغن نیز بالاتر خواهد بود (Rahimi *et al*., 2019). به نظر می‌رسد که کاربرد برگی اسید آمینه و تلقیح با مایکوریزا، طول دوره رشد گیاه و همچنین طول دوره پر شدن دانه‌ها را افزایش داده و امکان تبدیل بیشتر ترکیبات تولیدی به روغن را فراهم ساخته است.



شکل ۱- اثر برهم‌کنش سطوح مختلف اسید آمینه و مایکوریزا بر درصد روغن همیشه‌بهار. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 1- Effect of interaction of different levels of amino acids and mycorrhiza on the percentage of pot marigold oil. Columns with at least one common letter are not significantly different from Duncan's multiple range test at the 5% probability level



شکل ۲- اثر برهم‌کنش سطوح مختلف اسید آمینه و مایکوریزا بر عملکرد روغن همیشه‌بهار. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند

Figure 2- Effect of interaction of different levels of amino acids and mycorrhiza on the oil yield of pot marigold. Columns with at least one common letter are not significantly different from Duncan's multiple range test at the 5% probability level

عملکرد بذر

اثر تیمارهای محلول‌پاشی برگی اسید آمینه و مایکوریزا و برهم‌کنش آن‌ها بر صفت عملکرد بذر به‌ترتیب در سطح یک درصد و پنج درصد معنی‌دار شد. تلقیح با گونه *G. mosseae* و کاربرد اسید آمینه دارای بیشترین عملکرد بذر بود و این تیمار نسبت به شاهد با همین مایکوریزا ولی بدون کاربرد اسید آمینه ۲۴ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۳). وهبا و همکاران (Wahba *et al.*, 2015) بیان کردند که استفاده از انواع اسیدهای آمینه عملکرد بذر را در گیاه گزنه (*Urtica pilulifera* L.) افزایش داد. استفاده از اسیدهای آمینه می‌تواند به‌عنوان منبعی برای تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه، در افزایش تولید آسیمیلات‌های گیاه نقش مهمی داشته باشد و در پر شدن دانه موثر بوده و نقش تعیین‌کننده‌ای در عملکرد بذر خواهد داشت. می‌توان گفت که فیتوهورمون‌ها و ترکیباتی که با عملکرد و اجزای آن ارتباط معنی‌داری دارند، شامل اسیدهای آمینه هستند (Raeisi *et al.*, 2014).

در بخش‌هایی از دوره رشد گیاه، نیاز به جذب عناصر غذایی برای انجام فعالیت‌های متابولیسمی افزایش می‌یابد ولی احتمالاً به دلیل وجود محدودیت‌هایی، گیاه امکان جذب عناصر غذایی را به مقدار کافی نداشته و از طرفی در صورت فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز از طریق کود و خاک در زمان کمبود، بین جذب این عناصر و تبدیل آن‌ها به مواد مورد نیاز، شاید امکان رفع کامل نیازها میسر نگردد و گیاه دچار کمبود مواد غذایی شده و از رشد کافی برخوردار نگردد. این شرایط، کاهش عملکرد برای گیاه را محتمل کرده و برای رفع این مشکل، با کاربرد کودهای حاوی اسیدهای آمینه در زمان کوتاهی می‌توان نسبت به تأمین نیازهای گیاه اقدام و از کاهش عملکرد جلوگیری کرد (Golzadeh *et al.*, 2011). از طرفی با حضور قارچ مایکوریزا، سیستم ریشه‌ای گیاه توسعه یافته و با افزایش سطح جذب آب و مواد غذایی، کارآیی جذب آن‌ها توسط گیاه افزایش داشته و در نتیجه مواد بیشتری به سمت دانه‌ها منتقل می‌شوند که نهایتاً می‌تواند افزایش عملکرد بذر را باعث گردد.

عملکرد اسانس

اثر کاربرد برگی اسید آمینه و کاربرد مایکوریزا بر عملکرد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان دادند که عملکرد اسانس گیاه دارویی همیشه بهار تحت تاثیر کود اسید آمینه واقع شد و ۱۲٪ نسبت به شاهد افزایش را نشان داد (جدول ۴). احتمالاً، کاربرد کود اسیدآمینه باعث افزایش رشد سلولی گیاه را با اثر بر بهبود جذب عناصر غذایی شده و در تشکیل ترکیبات آلی گیاه همچون آنزیم و پروتئین نقش مهمی داشته و به همین جهت با افزایش رشد رویشی و وزن خشک گیاه و گل، منجر به افزایش عملکرد اسانس شده است. مرادی مرجانه و همکاران (Moradi Marjaneh *et al.*, 2018) در پژوهش خود بر روی گیاه دارویی رزماری بیان کردند که محلول‌پاشی با اسید آمینه هیومی فورته بیشترین میزان درصد و عملکرد اسانس را داشت.

تلقیح با گونه *G. mosseae* در صفت عملکرد اسانس، نسبت به شاهد بدون تلقیح ۲۲٪ افزایش مشاهده شد (جدول ۴). در تحقیقی بیشترین میزان درصد و عملکرد اسانس زیره سبز از تیمار *G. intraradices* به‌دست آمد (Haghir Ebrahimabadi *et al.*, 2017). تحقیق دیگری در گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare*) انجام شد که مشخص شد کاربرد قارچ مایکوریزا سبب افزایش چشمگیر میزان اسانس در مقایسه با شاهد شد (Khaosaad *et al.*, 2006). گلوبکینا و همکاران (Golubkina *et al.*, 2020) هم بیان کردند که کاربرد قارچ مایکوریزا باعث افزایش در اسانس گیاهان *Artemisia dracunculus* (tarragon), *Lavandula angustifolia* (lavender) and *Hyssopus officinalis* (hyssop) شد. محلول‌پاشی با کود اسید آمینه و از طرفی استفاده از قارچ‌های مایکوریزا سبب بهبود شرایط زیست ریشه در خاک، جذب بهتر مواد غذایی از سطوح بیشتر خاک، در اختیار قرار گرفتن مواد غذایی چون نیتروژن در زمان مورد نیاز شده و همه این‌ها در رشد رویشی و عملکرد بیولوژیک گیاه موثر واقع می‌شود و در نتیجه بر عملکرد اسانس تولیدی اثرگذار است.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این پژوهش تمامی گونه‌های مایکوریزای استفاده شده در این آزمایش، دارای توانایی برقراری همزیستی با گیاه همیشه بهار را داشتند. کاربرد اسید آمینه و مایه‌های تلقیح گونه‌های متفاوت مایکوریزا به‌ویژه گونه *G. mosseae* نسبت به تیمار عدم استفاده از قارچ مایکوریزا و کاربرد اسید آمینه سبب افزایش بسیار معنی‌داری در درصد کلونیزاسیون ریشه شد و این موضوع سبب افزایش رشد و نمو گیاه شد. *G. mosseae* باعث افزایش ۳۳٪ شاخص کلروفیل شد که بیان‌کننده اثرگذاری بیشتر مایکوریزا نسبت به کاربرد برگی اسیدآمینه در افزایش این شاخص است. همچنین نتایج نشان دادند که افزایش به‌ترتیب ۲۵٪ و ۷۰٪ در درصد و عملکرد روغن در اثر کاربرد برگی اسید آمینه و استفاده از مایکوریزا، گونه‌ی *G. mosseae* نسبت به عدم استفاده از کاربرد برگی اسید آمینه و مایکوریزا بود. در کل کاربرد مایکوریزا در گیاه دارویی همیشه بهار به‌ویژه گونه موسایی، توانست تغییرات مثبتی در شاخص‌های رشد و عملکرد این گیاه ایجاد کند و کاربرد برگی اسید آمینه (محلول‌پاشی) نیز پس از این‌که کلونیزاسیون در ریشه اتفاق افتاده بود، باعث بهبود آن شاخص‌ها شد.

سپاسگزاری

از دانشگاه پیام نور بابت تأمین بخشی از هزینه‌های این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Amouii, A. M., Mojahed, M., and Mojahed, M. 2017. Pot marigold Production Entrepreneurship Package. Publishing Asrar ghalam. 93 pages.
2. Aqhawani Shajari, M., Rezvani Moghadam, P., Ghorbani, R., and Nasiri Mahallati, M. 2015. Effects of application of organic, biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of (*Coriandrum sativum* L.). Horticultural Sciences 29 (4): 500-486.
3. Arjmand Alavi, M., Hatamzadeh, A., and Ehteshami, S. M. 2014. Effect of bulb inoculation with four species mycorrhizal fungi on quantitative and qualitative yield of two lily species. Iranian Journal of Seed Science and Research 1 (2): 57-65.
4. Auge, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11(1): 3-42. https://doi.org/10.1007/s005720100097.
5. Chaudhary, V., Kapoor, R., and Bhatnagar, A. K. 2007. Effect of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza 17: 581-587. https://doi.org/10.1007/s00572-007-0135-4.
6. Diagne, N., Ngom, M., Ibrahima Djighaly, P., Fall, D., Hocher, V., and Svistoonof, S. 2020. Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Plant Growth and Performance: Importance in Biotic and Abiotic Stressed Regulation. Diversity 12: 370. DOI:10.3390/d12100370.
7. Faten, S., Abd El-Aal, F. S., Shaheen, A. M., Ahmed, A. A., and Mahmoud, A. R. 2010. Effect of foliar application of urea and amino acids mixtures as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. Agriculture and Biological Sciences 6: 583-588.
8. Fathi, Sh., Azarpira, E., Sharafi, Y., and Najafian, S. 2020. Effect of some amino acids based biostimulants on Medicinal Mint (*Mentha spicat* L.) under salinity stress. Scientific Journal of Horticultural Nutrition 2 (2): 154-173.
9. Ghazi Manas, M., Banj Shafiee, S., Haj Seyed Hadi, M. R., and Darzi, M. T. 2013. Effects of vermicompost and nitrogen on quantitative and qualitative yeild of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 29 (2): 269-280. (in Persian).
10. Gogoi, P., and Singh, R. K. 2011. Different effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (Piperaceae). Indian Journal of Sciences and Technology 4(2): 119-125.
11. Golubkina, N., Logvinenko, L., Novitsky, M., Zamana, S., Sokolov, S., Molchanova, A., Shevchuk, O., Sekara, A., Tallarita, A., and Caruso, G. 2020. Yield, essential oil and quality performances of Artemisia dracunculus,

Hyssopus officinalis and Lavandula angustifolia as affected by arbuscular mycorrhizal fungi under organic management. Plants 9: 375. DOI: 10.3390/plants9030375. https://doi.org/10.3390/plants9030375.
12. Golzadeh, H., Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Fazeli, F., Ghaderi, A., and Zarincheh, N. 2011. Effects of biostimulants on quantitative and qualitative yield of German chamomile. Journal of Medicinal Plants 11(41): 195-207. (in Persian).
13. Gunes, A. K., Zengin, G., Ibrahime Sinan, K., Fawzi Mahomoodally, M., Picot-Allain, M. C. N., Cakýr, O., Bensari, S., Abdullah Yýlmaz, M., Gallo, M., and Montesano, D. 2020. A Comparative Bio-Evaluation and Chemical Profiles of Calendula officinalis L. Extracts Prepared via Different Extraction Techniques. Applied Sciences 10: 5920. DOI: 10.3390/app10175920.
14. Haghir Ebrahimabadi, A., Hatami, M., Karimzadeh Asl, K., and Ghorbanpour, M. 2017. Effect of Mycorrhizal Fungi and Biophosphor Fertilizer on Growth Features, Yield and Yield Components, and Essntial Oil Constituents in *Cuminum cyminum* L. Journal of Medicinal Plants 17 (2): 174-184. (in Persian).
15. Hamzei, J., and Salimi, F. 2014. Root Colonization, Yield and Yield Components of milk thistle (*Silybum marianum*) Affected by Mycorhizal Fungi and Phosphorus Fertilizer. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 24 (4): 85-96. (in Persian).
16. Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Elharchli, E., and Amrani Joutei, Kh. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and water stress on ultrastructural change of glandular hairs and ssential oil compositions in Ocimum gratissimum. Chemical and Biological Technologies in Agriculture 2: 1-10. https://doi.org/10.1186/s40538-017-0102-z.
17. Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., ZitterlEglseer, K., and Novak, J. 2006. Arbuscular mycorrhiza alters the concentration of essential oils in oregano (Origanum sp., Lamiaceae). Mycorrhiza 16 (6): 443-446. https://doi.org/10.1007/s00572-006-0062-9.
18. Kheiri, Z., Moghadam, M., and Moradi, M. 2020. Investigation of the effect of different species of mycorrhizal fungi on some growth indices, photosynthetic pigments, flavonoid and carotenoid content of pot marigold flower. Scientific Journal of Garden Nutrition 3 (1): 37-50 . (in Persian).
19. Khoramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mahalati, M., and Ghorbani, R. 2008. Application effects of biofertilizers on the growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). Iranian Journal of Crop Research 6 (2): 285-294. DOI: 10.22067/GSC.V6I2.2435. (in Persian).
20. Kormanik, P. P., and McGraw, A. C. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In Methods and Principles of Mycorrhizal Research (N. C. Schenck, Ed.). pp. 37-45. American Phytopathological Society, st Paul.
21. Krishnasree, R. K., Raj, S. K., and Chacko, S. R. 2021. Foliar nutrition in vegetables: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 10(1): 2393-2398. DOI: https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i1ah.13716.
22. Maleki, S., Aghayari, F., Ardakani, M. R., and Rajali, F. 2014. Investigation of the possibility of improving root growth of two lentil cultivars (*Lens culinaris* L.) using mycorrhizal and azospirillum symbiosis under dryland conditions. Journal of Agricultural Ecology 6 (4): 779-787. (in Persian).
23. Moghadasan, Sh., Safipour Afshar, A., and Saeid Nematpour, F. 2016. The Role of Mycorrhiza in Drought Tolerance of pot Marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Crop Ecophysiology 9 (4): 521-532. (in Persian).
24. Mohammadi, S., Tabrizi, L., Delshad, M., and Moteshare Zadeh, B. 2013. Investigation of growth and yield of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis and heavy metal stress conditions. Iranian Journal of Agroecology 3 (2): 48-59. (in Persian).
25. Moradi Marjaneh, E., Golavi, M., Ramroudi, M., and Salouki, M. 2018. Investigation of some qualitative characteristics of rosemary plant under the influence of foliar application of various nutrients at different harvest times. Journal of Crop Production 11 (4): 119-134. DOI: 10.22069/ejcp.2019.13979.2064.
26. Nasholm, T., Kielland, K., and Ganeteg, U. 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. New Phytology 182: 31-48. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x.
27. Omidbeigi, R. 2000. Production and processing of medicinal plants. Volume I, Second Edition, Tarahan Publication. 424 pp. (in Persian).
28. Pouryousef Miyandoaf, M., and Shahrvan, N. 2014. The effect of foliar application of amino acids at different times on yield and yield components of maize. Journal of Crop Physiology - Islamic Azad University, Ahvaz Branch 23: 21-32. (in Persian).
29. Raeisi, M., Farahani, L., and Palashi, M. 2014. Changes of qualitative and quantitative properties of radish (*Raphanus sativus* L.) under foliar spraying through amino acid. International Journal of Biosciences 4 (1): 463-468. DOI: http://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.1.463-468.
30. Rahimi, A., Jahanbin, Sh., salehi, A., and Faraji, H. 2016. Effect of mycorrhiza on morphological characteristics, phenolic compounds and chlorophyll fluorescence of (*Borago officinails* L.) under drought stress. Journal of Plant Environmental Physiology 11 (42): 46-55. (in Persian).
31. Rahimi, A., Jalalian, Sh., Salehi, A., and Farajee, H. 2017. The effect of mycorrhiza on yield, oil content and water use efficiency of medicinal plant of Borage (*Borago officinails* L.) under water stress. Iranian Journal of Horticultural Science 49 (2): 407-415. DOI: 10.22059/ijhs.2017.220274.1127.
32. Rahimi, N., Jalalian, J., Pirzad, A., and Gholinezhad, E. 2019. Evaluation of grain and oil yield changes of linseed (*Linum usitatissimum* L.) as affected by bio-fertilizers and supplementary irrigation. Scientific Journal of Plant Ecophysiology 12 (41): 41-52. (in Persian).

33. Rahmani, N., Valadabadi, S. A., Daneshian, J., and Bigdeli, M. 2008. The effect of different levels of drought stress and nitrogen on oil yield in pot marigold. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 24 (1): 101-108. (in Persian).
34. Rekha, B., Shruti, C., Rashmi, S., Sharma, A. K., and Johri, B. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and nutrient status of Dalbergia sissoo. Tropical Ecology Journal 50: 231-242.
35. Rezakhani, A., and Haj Seyed Hadi, M. R. 2017. Effect of manure and foliar application of amino acids on growth characteristics, seed yield and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.). Iranian Journal of Field Crop Science 48 (3): 777-786. DOI: 10.22059/ijfcs.2017.210745.654144. (in Persian).
36. Rafiee, H., Mehrafarin, A., Qaderi, A., Kalate Jari, S., and Naghdi Badi, H. 2013. Phytochemical, Agronomical and Morphological Responses of Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) to Foliar Application of Bio-stimulators (Bioactive Amino Acid Compounds). Journal of Medicinal Plants 12 (47): 48-61.
37. Saburi, M., Haj Seyed Hadi, M. R., and Darzi, M. T. 2014. The effect of foliar application of amino acids and application of nitrogen-fixing bacteria on the growth characteristics of green basil. The First International Congress and the Thirteenth National Congress of Agronomy and Plant Breeding. Iran
38. Safari Sinegani, A. A., and Elyasi Yeganeh, M. 2017. The occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soil and root of medicinal plants in Bu-Ali Sina garden in Hamadan, Iran. Biological Journal of Microorganism 5 (20): 43-59. DOI: 10.22108/bjm.2017.21145. (in Persian).
39. Slavov, A., Ognyanov, M., and Vasileva, I. 2020. Pectic polysaccharides extracted from pot marigold (*Calendula officinalis*) industrial waste. Food Hydrocolloids 101: 105545. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105545.
40. Soleimani, A. 2015. Effect of plant density on light absorption in canopy and growth indices of sunflower cultivars. Journal of Crop Physiology 28: 107-123. (in Persian).
41. Souri, M. K., and Yarahmadi, B. 2015. Effect of amino chelates foliar application on growth and development of Marigold (*Calendula officinalis*) plant. Crop Production Technology 15 (2): 109-119. (in Persian).
42. Torabahmadi, S., Abedy, B., and Saberali, S. F. 2019. Evaluation of some quantitative and qualitative characteristics of Pistachio plant in Response to amino acid compounds and seaweed extract. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 29 (4): 189-204. (in Persian).
43. Wahba, H. E., Motawe, H. M., and Ibrahim, A. Y. 2015. Growth and chemical compositionof *Urtica pilulifera* L. plant as influenced by foliar application of some aminoacids. Journal of Materials and Environmental Science 6 (2): 499-509.
44. Zhang, X. F., Hu, Z. H., Yan, T. X., Lu, R. R., Peng, C. L., Li, S. S., and Jing, Y. X. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Cd phytotoxicity by altering Cd subcellular distribution and chemical forms in *Zea mays*. Ecotoxicol Environ Saf 171: 352-360. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.12.097.